



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Medicina

Escuela Profesional de Tecnología Médica

Estudio comparativo de tres ensayos inmunoserológicos para la detección de anticuerpos anti-Trypanosoma cruzi en donantes del servicio de banco de sangre del Hospital Edgardo Rebagliati, Lima, Perú - 2017

TESIS

Para optar el Título Profesional de Licenciado en Tecnología
Médica en el área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica

AUTOR

Gustavo Adolfo JAIMES HUAMÁN

ASESOR

Yrma Adalberto ESPINOZA BLANCO

Willy Manuel CERÓN TELLO

Ricardo Mafalky RODRÍGUEZ TORRES

Lima, Perú

2017



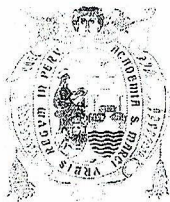
Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Jaimes G. Estudio comparativo de tres ensayos inmunoserológicos para la detección de anticuerpos anti-Trypanosoma cruzi en donantes del servicio de banco de sangre del Hospital Edgardo Rebagliati, Lima, Perú - 2017 [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Escuela Profesional de Tecnología Médica; 2017.



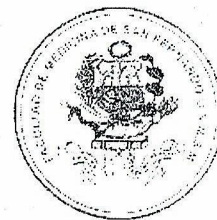
UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

FACULTAD DE MEDICINA

ESCUELA PROFESIONAL DE TECNOLOGÍA MÉDICA

"AÑO DEL BUEN SERVICIO AL CIUDADANO"



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Conforme a lo estipulado en el Art. 45.2 y, Art. 100.13 de la Ley 30220. El Jurado de Sustentación de Tesis nombrado por la Directora de la Escuela Profesional de Tecnología Médica, conformado por los siguientes docentes:

Presidente: Mg. José Antonio Paredes Arrascue

Miembro : Lic. Boris Moisés Valdivia Vizarraga

Mg. Eduardo Augusto Verástegui Lara

Se reunieron en la ciudad de Lima, el día 30 de Noviembre de 2017, procediendo a evaluar la Sustentación de Tesis, titulado **"ESTUDIO COMPARATIVO DE TRES ENSAYOS INMUNOSEROLÓGICOS PARA LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-Trypanosoma cruzi EN DONANTES DEL SERVICIO DE BANCO DE SANGRE DEL HOSPITAL EDGARDO REBAGLIATI, LIMA, PERÚ-2017"** para optar el Título Profesional de Licenciado en Tecnología Médica en el Área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica del Bachiller:

Gustavo Adolfo Jaimes Huamán

Habiendo obtenido el calificativo de:

18

(en números)

Dieciocho

(en letras)

Que corresponde a la mención de: **MUY BUENOS**

Quedando conforme con lo antes expuesto, se disponen a firmar la presente Acta.

Presidente
Mg. José Antonio Paredes Arrascue

Miembro
Boris Moisés Valdivia Vizarraga

Miembro
Mg. Eduardo Augusto Verástegui Lara

Asesor (a) de Tesis
Blgo. Irma Adalberto Espinoza Blanco



Av. Grau N° 755 - Apartado Postal 529 - Lima 100 - Perú - Central Facultad de Medicina (511) 328 3237, (511) 328 3232

(511) 3283238 Central UNMSM (511) 619-7000

Portal Web: <http://medicina.unmsm.edu.pe>

(511) 3283238 Central UNMSM (511) 619-7000

**ESTUDIO COMPARATIVO DE TRES ENSAYOS
INMUNOSEROLÓGICOS PARA LA DETECCIÓN DE
ANTICUERPOS ANTI-*Trypanosoma cruzi* EN DONANTES
DEL SERVICIO DE BANCO DE SANGRE DEL HOSPITAL
EDGARDO REBAGLIATI, LIMA, PERÚ-2017**

Autor: Bachiller JAIMES HUAMÁN GUSTAVO ADOLFO

Asesor: Blgo. Espinoza Blanco, Yrma

Coasesores: Lic. TM Ceron Tello, Willy

Lic. TM Rodríguez Torres, Ricardo

Dedicado

A mi abuelo Luis Huamán Ubillus

A mi padre Gustavo Jaimes Soto

A mi madre María Huamán Córdova

A mi madrina Sofía Huamán Cruz

Mis más sinceros agradecimientos

A mis padres y familia, por su apoyo y tiempo, por estar en los momentos más difíciles, por ayudarme con los recursos para estudiar, y por su comprensión y amor.

A la Doctora Espinoza Blanco Yrma por aceptar ser mi asesora y junto al personal de la sección científica de parasitología del Instituto de Medicina Tropical Daniel Alcides Carrión brindar los recursos para la realización de mi tesis.

Al Lic. Cerón Tello Willy por ayudarme, orientarme y motivarme para la elaboración de mi trabajo de tesis.

Al Lic. Rodríguez Torres Ricardo por su apoyo, tiempo y consejos en la redacción de este trabajo.

Al Lic. Roldán Gonzales William por ayudarme y orientarme, brindándome los recursos y conocimientos, para la ejecución de este trabajo de investigación

.

Al Laboratorio Clínico Escalabs por la donación del Kit Chagablot para la realización del Western Blot.

Al Hospital Edgardo Rebagliati Martins, con mención especial al servicio de Medicina Transfusional y al Laboratorio de Histocompatibilidad y banco de órganos, por el uso de sus ambientes.

ÍNDICE

I. INTRODUCCION.....	1
II. METODOS.....	16
1. TIPO DE INVESTIGACION.....	17
2. DISEÑO DE INVESTIGACION.....	17
3. POBLACIÓN.....	17
4. MUESTRA Y MUESTREO.....	17
5. VARIABLES.....	18
6. TECNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCION DE DATOS.....	19
7. PROCEDIMIENTOS Y ANALISIS DE DATOS.....	19
8. CONSIDERACIONES ETICAS.....	20
III. RESULTADOS	22
IV. DISCUSION.....	28
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	33
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	35
ANEXOS	41

LISTA DE TABLAS

Tabla N°1. Comparación entre el método CLIA e IFI. Julio-Noviembre 2015 – HNERM

Tabla N°2. Comparación entre el método WB e IFI. Julio-Noviembre 2015 – HNERM

Tabla N°3. Comparación entre el método CLIA y WB. Julio-Noviembre 2015– HNERM

Tabla N°4. Sensibilidad y especificidad del ensayo de CLIA y WB frente al IFI

Tabla N°5. Muestras con resultados discrepantes en cada ensayo realizado

Tabla N°6. Muestras con resultados concordantes en cada ensayo realizado

Tabla N°7. Resultados obtenidos y esperados para el ensayo IFI y CLIA

Tabla N°8. Resultados obtenidos y esperados para el ensayo IFI y WB

Tabla N°9. Resultados obtenidos y esperados para el ensayo WB y CLIA

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Porcentaje de resultados positivos y negativos en muestras de plasma evaluados por CLIA, WB e IFI

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: La enfermedad de Chagas causada por el parásito *Trypanosoma cruzi* es un importante problema de salud pública a nivel de Latinoamérica. Con el fin de evitar la transmisión transfusional, las donaciones de sangre son analizadas mediante la detección de anticuerpos contra el parásito. El uso analítico de la quimioluminiscencia (CLIA) ha experimentado un creciente interés como alternativa simple, barata y sensible. Si bien los conocimientos sobre esta metodología sugieren que la quimioluminiscencia es una técnica adecuada para el tamiz en bancos de sangre, necesita ser evaluada primero antes de ser aceptada en un grupo específico como son los donantes. La confirmación de la enfermedad en los infectados chagásicos es necesaria para que los bancos de sangre informen a sus donantes sobre su condición, para que tomen las medidas de control y terapia pertinentes. **OBJETIVO:** Comparar tres ensayos inmunoserológicos para la detección de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi*, en donantes del Banco de sangre del Hospital Edgardo Rebagliati Martins. **DISEÑO METODOLÓGICO:** Se planteó un estudio descriptivo retrospectivo de corte transversal. Muestra. 63 plasmas con resultado reactivo por el método de ELISA indirecto, evaluados por quimioluminiscencia (CLIA), western blot (WB) e inmunofluorescencia (IFI). Se hizo un análisis descriptivo a través del cálculo de frecuencias, sensibilidad y especificidad, índice kappa (k) y chi-cuadrado. **RESULTADOS:** Del total de muestras estudiadas, 7.94% (5/63) fueron reactivos por CLIA, 6.35% (4/63) positivos por WB y 7.94% (5/63) por IFI. La concordancia entre la prueba de CLIA e IFI obtuvo un $k = 0.78$, WB e IFI un $k = 0.88$ y CLIA y WB un $k = 0.88$. Considerando al IFI como prueba de referencia, la prueba de CLIA dio una sensibilidad y especificidad de 80 y 98% respectivamente, mientras el Western Blot dio una sensibilidad y especificidad de 80 y 100%. **CONCLUSIONES:** Se concluye que el grado de concordancia entre las pruebas fue buena, CLIA e IFI (0.78), WB e IFI (0.88) y CLIA y WB (0.88), con buena asociación entre las tres. **PALABRAS CLAVE:** ELISA, Quimioluminiscencia, Western blot, Inmunofluorescencia indirecta, plasma reactivo.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Chagas' disease caused by the parasite *Trypanosoma cruzi* is an important public health problem in Latin America. In order to avoid the transfusional transmission, blood donations are analyzed by the detection of antibodies against the parasite. The analytical use of chemiluminescence (CLIA) has been growing in interest as a simple, cheap and sensitive alternative. While knowledge about this methodology suggests that chemiluminescence is a suitable technique for screening blood banks, it first needs to be evaluated before being accepted into a specific group such as donors. Confirmation of the disease in chagasic infected patients is necessary for blood banks to inform their donors about their condition, to take appropriate control and therapy measures. **OBJECTIVE:** To compare three immunoserological tests for the detection of anti-*Trypanosoma cruzi* antibodies in donors of the blood Bank of the Edgardo Rebagliati Martins Hospital. **METHODOLOGICAL DESIGN:** A cross-sectional retrospective descriptive study was presented. Sample. 63 plasmas with reactive result by ELISA indirect method, assessed by chemiluminescence (CLIA), western blot (WB) and immunofluorescence (IFI). A descriptive analysis was made through the calculation of frequencies, sensitivity and specificity, kappa (k) index and chi-square. **RESULTS:** Of the total samples studied, 7.94% (5/63) were reactive by CLIA, 6.35% (4/63) positive by WB and 7.94% (5/63) by IFI. The agreement between the CLIA and IFI test obtained a $k = 0.78$, WB and IFI a $k = 0.88$ and CLIA and WB a $k = 0.88$. Considering the IFI as reference test, the CLIA test gave a sensitivity and specificity of 80 and 98% respectively, while the Western blot gave a sensitivity and specificity of 80 and 100%. **CONCLUSIONS:** We concluded that the degree of agreement between the tests was good, CLIA and IFI (0.78), WB and IFI (0.88) and CLIA and WB (0.88), with good association among the three. **KEY WORDS:** ELISA, Chemiluminescence, Western Blot, Indirect Immunofluorescence, Reactive Plasma.

CAPITULO I

INTRODUCCION

1.1 DESCRIPCION DE LOS ANTECEDENTES

La Tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas, causada por el protozoo parásito *Trypanosoma cruzi*, es un importante problema de salud pública en los países de Latinoamérica. La persistencia de la infección y el largo periodo asintomático de la mayoría de infectados junto al elevado número de personas que migran de zonas endémicas, posibilitan la aparición de la transmisión no vectorial a través de la transfusión sanguínea y trasplante de órganos sólidos provenientes de personas infectadas.

El diagnóstico de la infección se basa, fundamentalmente, en la determinación de anticuerpos específicos contra antígenos de *T. cruzi*. A pesar de los avances tecnológicos de los últimos tiempos, ningún ensayo serológico alcanza el 100% de sensibilidad y especificidad, de manera que el diagnóstico de confirmación se basa en la concordancia de, por lo menos, 2 técnicas de principios y antígenos diferentes.¹

Con el fin de evitar la transmisión transfusional, las donaciones de sangre recibidas en la zona endémica son analizadas mediante la detección de anticuerpos séricos anti-*T. cruzi*. Para esto se utilizan diferentes tecnologías siendo el ELISA el más difundido dado su alta sensibilidad, especificidad y simplicidad.²

Todos los trabajos publicados hasta la fecha coinciden en la gran complejidad antigénica de *T. cruzi*, existiendo una gran heterogeneidad a nivel de antígenos entre cepas, clones e incluso entre las distintas formas que adopta en su ciclo de vida y, por lo tanto, diferencias de sensibilidad y especificidad entre los diferentes tipos de ELISA.⁴ En investigaciones desarrolladas en Chile en el 2003, Díaz Rene y col., han reportado una mejor sensibilidad y especificidad de los ensayos basados en extracto total del parásito y sugieren la necesidad de analizar con más detalle las tecnologías usadas en los ensayos basados en antígenos recombinantes.²

El uso analítico de la quimioluminiscencia (CLIA) ha experimentado un creciente interés, ya que representa una alternativa simple, barata y sensible para cuantificar una

gran variedad de compuestos.⁵ En estudios realizados en Argentina, en el año 2013 por Fernández Carolina y col., donde se analizó por sistema Architect, se halló una sensibilidad de 100% y especificidad de 99.3%.¹¹

La Organización Panamericana de la Salud (OPS) ha lanzado la iniciativa Regional sobre sangre segura, la misma que propone mejorar la calidad de la sangre para transfusiones en las Américas, poniendo énfasis en el tamizaje del 100% de las unidades de sangre colectadas. La Hemovigilancia alcanza entonces, todos los procesos y actividades que propendan a disminuir de una u otra forma el riesgo siempre latente que conlleva la transfusión de sangre o hemocomponente.⁶

El presente estudio se planteó la siguiente pregunta: ¿Cuál es la comparación en tres ensayos inmunoserológicos para la detección de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* en donantes del Banco de sangre del Hospital Edgardo Rebagliati Martins?

1.2 IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN

En el Perú, algunos Hospitales ya han implementado el CLIA para el tamizaje de donantes, mientras que otros lo están haciendo recientemente. Los conocimientos actuales sobre esta metodología sugieren que esta técnica es similar o mejor frente al ELISA y por lo tanto adecuada para el tamiz en bancos de sangre, sin embargo necesita ser evaluada primero antes de ser aceptada en un grupo específico como los donantes.

La hemovigilancia está involucrada desde la selección del donante hasta la transfusión de la unidad sanguínea, focalizando sus objetivos a los efectos adversos producto de una transfusión de sangre, y al seguimiento de los donantes y receptores potencialmente afectados durante este proceso.⁶

Por lo tanto, la confirmación de la enfermedad casi constante en los infectados chagásicos fundamenta la necesidad de que los bancos de sangre informen a sus donantes sobre su condición, para que tomen las medidas de control y terapia

pertinentes, y para que no donen sangre de nuevo permitiendo disminuir el riesgo de transmisión en zonas en que no se efectúa este procedimiento. ⁸

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

- ✓ Comparar tres ensayos inmunoserológicos para la detección de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi*, en donantes del Banco de sangre del Hospital Edgardo Rebagliati Martins.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Determinar el porcentaje de muestras reactivas y no reactivas por CLIA.
- ✓ Determinar el porcentaje de muestras positivas y negativas por pruebas confirmatorias (IFI y WB).
- ✓ Establecer el grado de concordancia y asociación entre las 3 pruebas inmunoserológicas.

1.4 BASES TEÓRICAS

1.4.1 BASE TEÓRICA

1.4.1.1 Enfermedad de Chagas y Transfusión

La enfermedad de Chagas, nombrada así en honor a Carlos Justiniano de Chagas, fue descubierta en 1909. Pasaron muchos años hasta que en 1936 Mazza sugiere la transmisión de la enfermedad por transfusión sanguínea. Pasan 13 años más hasta que en 1949, se describen en Brasil los primeros donantes de sangre infectados por *T. cruzi*. Pero no es hasta 1952, que Freitas documenta los primeros casos de enfermedad de Chagas por transfusión.^{1,4}

La transfusión constituye la segunda causa más frecuente de transmisión de la enfermedad en países endémicos, después de la transmisión vectorial pero con mayor frecuencia que la vertical (madre-hijo). Sin embargo, es el primer modo en adquirir la enfermedad en países no endémicos.^{1,4,21}

Durante la fase crónica, la parasitemia es baja e intermitente, por lo que una transfusión procedente de un donante con enfermedad de Chagas puede no resultar infectante. Por otro lado, el número de casos de Chagas post-transfusional son cifras que se consideran infravaloradas, una de las causas es debido a que no todas las personas infectadas por transfusión muestran sintomatología.¹

La transfusión actualmente es una fuente importante de contagio en América Latina, principalmente debido al flujo migratorio de zonas rurales a zonas urbanas. La infección transfusional por *T. cruzi* es un problema potencial también en países desarrollados, ya que los latinoamericanos emigran a estos países. Esto explica que en países no endémicos con una población importante de donantes, no se pueda descartar la posibilidad de transfundir sangre infectada por *T. cruzi*.³⁰

Es probable que algunos casos de Chagas postransfusional no sean diagnosticados, ya sea porque los pacientes se encuentren asintomáticos o apenas con manifestaciones de la enfermedad o que los pacientes fallezcan debido a la enfermedad de fondo, sin dar tiempo al diagnóstico de enfermedad de Chagas.

Otras posibilidades a considerar son: 1) las personas transfundidas hace años, y que se encuentran asintomáticas pero que presentan reactivación de la enfermedad debido a inmunodepresión severa, y 2) en relación con los donantes, hijos de madres con enfermedad de Chagas, nacidos fuera de zonas endémicas.¹

1.4.1.2 Clínica post-transfusional

La parasitemia en donantes generalmente es baja e intermitente, por lo que la transfusión puede no transmitir la enfermedad si en el momento de la donación no hay parásitos en sangre. En el Chagas post-transfusional, el periodo de incubación es de 20-40 días, mayor que el transmitido vectorialmente (7-10 días). Ello ha sido atribuido a la menor capacidad infectiva de tripomastigotes circulantes respecto de los tripomastigotes metacíclicos eliminados por el vector.¹

Durante la fase aguda, la fiebre se presenta como el más común y a veces el único síntoma. Pueden aparecer adenopatías, hepatoesplenomegalia, miocarditis difusa acompañada de pericarditis y meningoencefalitis como las complicaciones más graves en esta fase. La recuperación se produce entre 6-8 semanas, muchas veces sin requerir tratamiento. En la mayoría de casos, la enfermedad sigue su curso habitual hacia la fase crónica indeterminada, pudiendo durar varias décadas. Finalmente, puede aparecer la fase crónica con manifestaciones cardíacas o gastrointestinales.^{1, 30, 45}

1.4.1.3 Infección por Transfusión

Afortunadamente, sólo una parte de los que reciben una transfusión de sangre infectada con traen la infección.³⁰ Depende de varios factores:

a. Tipo de hemocomponente.

El parásito es susceptible al procesamiento y manipulación de la bolsa de sangre, ya que trata de un parásito relativamente frágil, pudiendo ser transmitido por sangre total, concentrado de hematíes, plaquetas, leucocitos, plasma fresco o crioprecipitado. ^{1, 28}

El componente de mayor riesgo son las plaquetas, la mayoría de los casos publicados en zonas no endémicas fueron por causa de este componente. El hecho de que las unidades de plaquetas se conserven a 20-24° C, temperatura cercana a la utilizada para cultivar el parásito, puede explicar que el *T. cruzi* permanezca viable durante todo el periodo de conservación de este componente. Se ha referido que el parásito podría vivir 2-3 semanas a temperaturas de refrigeración y congelación, pero no se conoce la supervivencia más allá de este periodo. La adición de un crioprotector como glicerol puede tal vez mejorar la viabilidad del *T. cruzi*. Otro tipo de procedimiento como la irradiación no inactiva al parásito, sin embargo la leucodepleción disminuye el número de parásitos, aunque no evita totalmente la transmisión.¹

b. Presencia de parasitemia.

Para transmitir la enfermedad, el donante debe presentar parasitemia al momento de la donación y en donantes los niveles de parasitemia son bajos. Los tripanosomas son parásitos con tropismo intracelular y normalmente no circulan libres por la sangre.

c. Estado inmune del receptor.

Las infecciones agudas son identificadas por lo general en pacientes inmunodeprimidos, por lo tanto, la mayoría de los pacientes transfundidos no son reconocidos aunque se encuentren infectados. Es posible que en pacientes inmunocompetentes se produzcan casos de transmisión de *T. cruzi* no detectados debido a la levedad o ausencia de síntomas. No obstante, en pacientes inmunodeprimidos, la infección puede ser grave e incluso mortal.¹

d. Realización de pruebas de cribado.

Se basan en la determinación de anticuerpos específicos contra antígenos de *T. cruzi*. Dichos anticuerpos, se generan a partir de la segunda semana pos-infección, y no alcanzan valores máximos hasta después de la tercera o cuarta semana. ¹ Los donantes que cursan la etapa aguda, latente o crónica de la infección pueden no ser identificados en las encuestas de auto-exclusión realizadas por norma en los bancos de sangre, al no presentar signos o síntomas secundarios a ella.⁸

Cuando no se lleva a cabo la serología para *T. cruzi*, el riesgo de recibir una unidad infectada se incrementa cuanto mayor sea la prevalencia de la enfermedad en la población de donantes y el número de transfusiones recibidas por el receptor. Así, los individuos politransfundidos, como los hemofílicos, pacientes que reciben diálisis u otros pacientes con trastornos hematológicos, están más expuestos.³⁰

1.4.1.4 Diagnóstico de la enfermedad de Chagas

El diagnóstico de laboratorio de la enfermedad de Chagas reviste unas características especiales debido a que, según la etapa en la que se encuentre el paciente se utilizará técnicas de búsqueda del parásito, o bien técnicas de detección de anticuerpos contra los parásitos.⁴

En este sentido, se debe tener en cuenta que independientemente de la vía de transmisión del *T. cruzi*, cuando éste ingresa al organismo, cumple sus primeros ciclos de desarrollo en el hospedador, que comprenden entre 7 a 15 días, período después del cual recién se pueden detectar parásitos circulantes y posteriormente anticuerpos contra el parásito. De tal manera, como en otras enfermedades infecciosas, existe un periodo de ventana, que es indispensable conocer, para evitar la realización de estudios parasitológicos y/o serológicos en un momento inadecuado, con la consecuencia de posibles falsos resultados negativos.

Luego del período de ventana, comienza la fase aguda, en donde la suma de las pruebas parasitológicas presentan una sensibilidad superior al 95%, para luego decaer hasta

llegar al 50% o menos en el periodo crónico de la enfermedad. A partir de los 30 días, se recomienda implementar simultáneamente las metodologías serológicas. Durante todo el curso posterior de la infección, las pruebas serológicas en su conjunto presentan una sensibilidad cercana al 100%.³⁵

- **Diagnóstico serológico**

T. cruzi es un protozoo extremadamente antigénico, por lo que pocos meses después de la infección existe una respuesta inmune humoral eficaz para controlar el aumento de la parasitemia. Normalmente, esto se consigue por medio de anticuerpos producidos contra diferentes componentes del parásito, fundamentalmente de tipo IgG, aunque también podemos encontrar en un 5-10% de los casos IgM y en menor proporción IgA.⁴

El diagnóstico serológico se basa en la determinación de inmunoglobulinas G totales anti-*T. cruzi*. Por cuestiones prácticas, se denomina convencional cuando se emplea como antígeno todo el parásito como es el caso de la Inmunofluorescencia indirecta (IFI) o una mezcla compleja de antígenos de parásito como en los casos de hemoaglutinación indirecta (HAI) y ensayos inmunoenzimáticos (ELISA). El diagnóstico serológico es no convencional cuando los antígenos son purificados, recombinantes o péptidos sintéticos formato ELISA, aglutinación de partículas de gel, inmunocromatografía o Western Blot.^{1,4}

A pesar de los continuos avances, ningún ensayo serológico alcanza el 100% de sensibilidad y especificidad, por lo que las pautas para diagnóstico de la infección chagásica determinan que, para que un individuo sea considerado chagásico, deben dar positivos al menos dos métodos serológicos diferentes.³⁵ Cuando los resultados son discordantes, es necesario realizar pruebas de confirmación, y diagnóstico diferencial con otras enfermedades que pueden producir reacciones falsamente positivas (leishmaniasis, malaria, sífilis, etc.)¹

Las pruebas **serológicas convencionales** se basan en la detección de anticuerpos frente a *T. cruzi*. Los anticuerpos son detectados por diferentes test comerciales disponibles; entre ellos la hemaglutinación indirecta (HAI), inmunofluorescencia indirecta (IFI), y ensayos inmunoenzimáticos (ELISA). El antígeno utilizado en estos ensayos puede ser el parásito completo o extractos solubles o purificados cuya composición es una mezcla compleja de antígenos de *T. cruzi*, lo que da lugar a un aumento de las reacciones inespecíficas (falsos positivos). Se ha descrito variabilidad en la reproducibilidad y exactitud de los resultados de los test convencionales, lo que podría ser explicado por la poca estandarización de los reactivos.^{4, 15}

Así mismo, también es frecuente encontrar reacciones cruzadas con anticuerpos producidos por otros patógenos, por ejemplo, en individuos infectados con *Leishmania* spp.³⁶. Incluso algunos pacientes con enfermedad de Chagas pueden dar resultados negativos con la serología clásica. Este escenario claramente indica la necesidad de desarrollar mejores test diagnósticos para la enfermedad de Chagas.^{38, 39}

Las pruebas **serológicas no convencionales** se basan, fundamentalmente, en técnicas ELISA que utilizan como reactivos proteínas recombinantes o péptidos sintéticos, creados con el fin de aumentar la especificidad del diagnóstico serológico y evitar la reactividad cruzada con otras enfermedades parasitarias como la leishmaniasis.^{4, 15}

En estos métodos serológicos, se ha propuesto la utilización de nuevos soportes para inmovilizar los antígenos, tales como tiras o cuentas de colores, y de nuevas técnicas como la inmunoelectrotransferencia (WB).²⁴

Las pruebas que se emplean con más frecuencia son las que utilizan antígenos recombinantes. Aunque la mayoría de las pruebas no convencionales poseen gran especificidad, su sensibilidad puede ser inferior a la de la serología convencional.

Todos los trabajos publicados hasta la fecha coinciden en la gran complejidad antigénica de *T. cruzi*, existiendo una gran heterogeneidad a nivel de antígenos entre cepas, clones e incluso entre las distintas formas que adopta en su ciclo de vida.⁴⁰

En *T. cruzi* existe un número importante de proteínas que contienen dominios repetidos en tándem que han mostrado tener relevancia inmunológica, dado que la mayoría de ellos son moléculas antigénicas.⁴¹

El clonaje y secuenciación de antígenos inmunodominantes de *T. cruzi* en las infecciones en el hombre, abre nuevas opciones para la elaboración de reactivos de diagnóstico bien definidos, tales como antígenos recombinantes o péptidos sintéticos. La evaluación de algunas proteínas recombinantes ha mostrado resultados prometedores para el diagnóstico de la infección por *T. cruzi*.⁴²

La tendencia actual es emplear proteínas recombinantes como elementos sensibilizantes, ya que se pueden obtener grandes cantidades de ellas altamente purificadas, pudiendo ser sintetizadas a partir de secuencias de ADN que codifican para fragmentos del péptido en el cual se han eliminado las regiones responsables de reacción cruzada⁴³. Además, determinados péptidos recombinantes se han usado en el diagnóstico serológico, basándose en su capacidad de mejorar diferentes aspectos de los test, al compararlos con el extracto total del parásito. Considerando esto, se han empleado diferentes péptidos, mejorando de una u otra forma la realización del ensayo.⁴⁴

1.4.1.5 Enfermedad de Chagas postransfusional

El control y prevención de la infección por *T. cruzi* por vía transfusional empieza con el control de los donantes de sangre, implementando programas de sangre segura. Para este fin se utilizan pruebas serológicas para anticuerpos IgG contra el parásito *T. cruzi* y se recomiendan las de mayor sensibilidad. En la mayoría de los bancos de sangre se utilizan pruebas de tamizaje más sensibles, que los utilizados para la confirmación de la infección crónica.⁴⁵ Por tal motivo, todo donante reactivo debe ser notificado al Jefe del Banco de Sangre para que comunique al donante que debe acudir al Centro de Hemoterapia para realizarse las pruebas serológicas, y de ser necesario confirmar el diagnóstico y ser controlado.¹⁰

Cuando se sospeche en todo caso de infección aguda postransfusional de *T. cruzi* se deberá contactar al banco de sangre correspondiente a fin de evaluar al donante. Si se comprueba la infección (por detección del parásito o seroconversión positiva), se debe proceder a administrar el tratamiento específico.¹⁰

- **Control de donantes en bancos de sangre**

Las indicaciones para el control de donantes establecen que los bancos de sangre podrán utilizar métodos serológicos de selección o descarte. Estos métodos permiten identificar rápidamente los sueros reactivos, que indica la necesidad de descartar la sangre del donante, ofreciendo la posibilidad de garantizar adecuadamente la seguridad de la transfusión ante un donante no reactivo. Sin embargo, estos métodos generan un porcentaje elevado de falsos positivos, por lo que en ningún momento los resultados de estas pruebas pueden utilizarse para confirmar una infección.⁴⁵ Por tal motivo, es importante realizar la confirmación diagnóstica, fortalecer el seguimiento de donantes e iniciar el control médico y tratamiento si esta se confirma.⁶

1.4.1.6 Quimioluminiscencia

El uso analítico de la quimioluminiscencia (CLIA) está experimentando un creciente interés, ya que representa una alternativa simple, barata y sensible para cuantificar una gran variedad de compuestos. Debido a la nueva instrumentación y, especialmente a la incorporación de técnicas modernas, algunas nuevas y otras tomadas de otras disciplinas, la quimioluminiscencia y la bioluminiscencia se aplican de forma rutinaria en el análisis tanto cualitativo como cuantitativo.

Hoy en día, el interés analítico de CLIA está aumentando considerablemente debido a sus múltiples ventajas, como bajos límites de detección, rangos dinámicos amplios, alta sensibilidad y la gran versatilidad de estos métodos. Recientemente, las investigaciones se están centrando especialmente en el desarrollo de productos quimioluminiscentes para aplicaciones de diagnóstico clínico.⁵

- **Características del CLIA como técnica analítica**

Como la velocidad de la reacción es función de las concentraciones de reactivos, el CLIA es una técnica adecuada para el análisis cuantitativo. La utilidad de los sistemas quimioluminiscentes en química analítica se basa en algunas características especiales:

- a) La técnica comprende simultáneamente características cinéticas y luminiscentes, por lo que proporciona una alta sensibilidad y un amplio rango dinámico
- b) Comparada con los procesos de fotoluminiscencia, no se requiere fuente de excitación externa, lo que ofrece algunas ventajas, como la ausencia de dispersión y señales fotoluminiscentes de fondo.
- c) La selectividad y la linealidad son más dependientes de la reacción y de las condiciones de reacción escogidas.
- d) La técnica es versátil para la determinación de una amplia variedad de especies que pueden participar en el proceso quimioluminiscente.
- e) Dependiendo de la naturaleza del analito y de la reacción quimioluminiscente, el incremento o disminución de la intensidad de quimioluminiscencia estará directamente relacionada con la concentración de analito. ⁵

1.4.2 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS

Inmunoensayo quimioluminiscente con micropartículas (CLIA): Método de cuantificación utilizando una reacción antígeno anticuerpo, un marcador como indicador de la reacción que puede ser el éster de acrinina u otro, que en combinación con los reactivos: peróxido-ácido e hidróxido de sodio proporcionan la reacción quimioluminiscente.

ELISA: inmunoensayo en el cual un antígeno o anticuerpo inmovilizado se detecta mediante un anticuerpo enlazado a una enzima capaz de generar un producto detectable.

Western Blot (WB): es una técnica analítica usada para detectar proteínas específicas en una muestra determinada. Mediante una electroforesis en gel se separan las proteínas, luego son transferidas a una membrana adsorbente para poder buscar la proteína de interés con anticuerpos específicos contra ella.

Inmunofluorescencia Indirecta (IFI): es una técnica de inmunomarcación que hace uso de anticuerpos unidos químicamente a una sustancia fluorescente para demostrar la presencia de una determinada molécula.

Sensibilidad: proporción de enfermos correctamente identificados. Es decir, la sensibilidad caracteriza la capacidad de la prueba para detectar la enfermedad en sujetos enfermos.

Especificidad: proporción de sanos correctamente identificados. Es decir, la especificidad caracteriza la capacidad de la prueba para detectar la ausencia de la enfermedad en sujetos sanos.

Falso positivo: es un error por el cual al realizar una prueba complementaria (un análisis de sangre, etc.) su resultado indica una enfermedad/embarazo, cuando en realidad no la/lo hay.

Cut-off: punto de corte determinado por cada prueba, a partir del cual se puede discriminar entre un resultado positivo y negativo.

Ratio: Resultado numérico obtenido del cociente de dividir el resultado de la muestra y el calibrador.

1.4.3 FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS

La comparación entre los tres ensayos inmunoserológicos para la detección de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* en donantes del Banco de sangre del Hospital Edgardo Rebagliati Martins es concordante.

CAPITULO II

MÉTODOS

2.1 DISEÑO METODOLÓGICO

2.1.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN

Estudio cualitativo descriptivo. Se estudian variables que otorgan resultados cualitativos mediante un análisis descriptivo

2.1.2 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

Estudio observacional retrospectivo de corte transversal. Observación de una base de datos y procesamiento de muestras almacenadas (seroteca).

2.1.3 POBLACIÓN

La población de estudio fue conformada por los plasmas de donantes de sangre, Seroteca del Banco de Sangre del HNERM

2.1.4 MUESTRA Y MUESTREO

Plasma de donantes de sangre, obtenidos a partir de tubos EDTA y con resultado “Reactivo” (presencia de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi*) por prueba de ELISA Biokit, detectada durante el periodo Julio - Noviembre del 2015

Tipo de muestreo: No probabilístico consecutivo

2.1.4.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- ✓ Plasmas con resultado REACTIVO en las pruebas de ELISA para anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* por duplicado en tubo primario y muestra obtenida de la bolsa de plasma.
- ✓ Plasmas con resultado INDETERMINADO con Ratio >1, también por duplicado.

2.1.4.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- ✓ Plasmas que posterior a la congelación, evidencien macroscópicamente lipemia, hemolisis, coágulos o partículas en suspensión.
- ✓ Plasma reactivo con identificación inadecuada (mala rotulación, no distinción de datos en sistema).
- ✓ Plasmas con volumen menor a 200 microlitros.

2.1.5 VARIABLES

➤ **Variables a comparar:** Ensayos CLIA, WB e IFI

Variable	Ensayo inmunoserológico	Definición Conceptual	Definición Operacional	Indicador
ENSAYOS INMUNOSEROLOGICOS EN COMPARACIÓN	CLIA	Cuantificación de una sustancia, utilizando una reacción quimioluminiscente de antígeno anticuerpo	Ensayo quimioluminiscente que determina la presencia de anticuerpos IgG anti- <i>Trypanosoma cruzi</i>	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Reactivo ✓ No Reactivo
	IFI	Técnica de inmunomarcación que hace uso de anticuerpos unidos a una sustancia fluorescente para demostrar la presencia de una molécula.	Ensayo fluorescente que emplea epimastigotes de <i>Trypanosoma</i> para evidenciar anticuerpos	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Positivo ✓ Negativo
	WB	Técnica analítica basada en la electrotransferencia para identificar proteínas específicas	Ensayo que utiliza antígenos glicoproteicos de epimastigotes de <i>T. cruzi</i> para detectar anticuerpos	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Positivo ✓ Negativo

2.1.6 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

La técnica que se utilizó en el presente estudio fue la observación, de la Base de datos del Banco de sangre, utilizando además como instrumento una ficha debidamente elaborada y ordenada donde se registraron todos los datos que se recopilaban durante la investigación, los cuales fueron organizados en una base de datos para su análisis. (ANEXO N°1)

2.1.7 PROCEDIMIENTOS Y ANÁLISIS DE DATOS

Se analizaron 63 plasmas de donantes reactivos por el método ELISA de la seroteca del Banco de sangre, detectadas durante el periodo Julio - Noviembre del 2015, previa autorización de la Oficina de Capacitación, Investigación y Docencia de la Red Asistencial Rebagliati (Resolución n°242-GRAR-ESSALUD-2016) y del jefe del Servicio de Medicina Transfusional “Dr. Arturo Sagastegui Soto”.

Los plasmas fueron alicuotados y conservados por duplicado a -70 °C. Antes de iniciar el procedimiento de los ensayos, se puso a descongelar las muestras a temperatura ambiente y se realizó cada uno de manera individual. La Quimioluminiscencia (CLIA ARCHITECT i1000SR), para la determinación cualitativa de anticuerpos IgG específicos anti-*T. cruzi*, utilizando un multiantígeno recombinante multiepítomos que recubre las partículas magnéticas (fase sólida), evidenciado por conjugado (anticuerpo-isoluminol) (ANEXOS N°2). La Inmunofluorescencia indirecta (estandarizado en el Instituto de medicina tropical), con antígeno epimastigote de *Trypanosoma*, obtenidos de cultivo y fijados en láminas sobre las que se realiza la reacción antígeno-anticuerpo y evidenciada por antiglobulina humana marcada con fluoresceína (ANEXOS N°3). El Western Blot (ChagaBLOT Escalabs), que utiliza antígenos glicoproteicos de excreción-secreción de epimastigotes de *T. cruzi* en membranas de nitrocelulosa, que se incuban con el suero problema para formar el complejo antígeno-anticuerpo, añadido

del conjugado enzimático (anti-IgG humana - peroxidasa) y revelado mediante sustrato (H₂O₂) con banda de color marrón (ANEXOS N°4).

Se utilizaron gráficos de barras para representar los resultados de frecuencia en porcentaje. Las variables se estudiaron en tablas de contingencia a partir de los resultados obtenidos por CLIA, WB e IFI. Estos incluyeron los resultados discordantes para cada metodología frente al IFI (Ensayo de referencia).

Se aplicó el índice kappa con el fin de comparar el desempeño de CLIA y WB frente al IFI, y para evaluar si existe relación estadísticamente significativa entre las variables se utilizó la prueba de Chi cuadrado (Chi²), con $p < 0,05$. Para el análisis de los datos, se utilizó el programa estadístico STATA y Excel 2010.

2.1.8 CONSIDERACIONES ÉTICAS

- El estudio fue realizado bajo autorización del Hospital Edgardo Rebagliati Martins y el servicio de Medicina Transfusional (Resolución n°242-GRAR-ESSALUD-2016), para poder desarrollar el estudio.
- No se trabajó con las muestras hasta después de haber sido procesadas primero por el Hospital. Una vez realizada las pruebas correspondientes por parte de este, se alicuotaron y guardaron los plasmas a -70 °C.
- Siendo muestras obtenidas por el Hospital para el tamizaje obligatorio de las bolsas de sangre, no se entregó un consentimiento informado, ya que se desconocía la identidad de los donantes, solo se consideró como información los resultados por ELISA.
- Finalmente, no se requirió autorización por el comité de ética porque no hubo intervención con el donante, ni obtención de sus datos personales. Además, todas las muestras fueron identificadas a través de un código previamente dado por el servicio de Medicina Transfusional, por lo que los donantes permanecieron en anonimato.

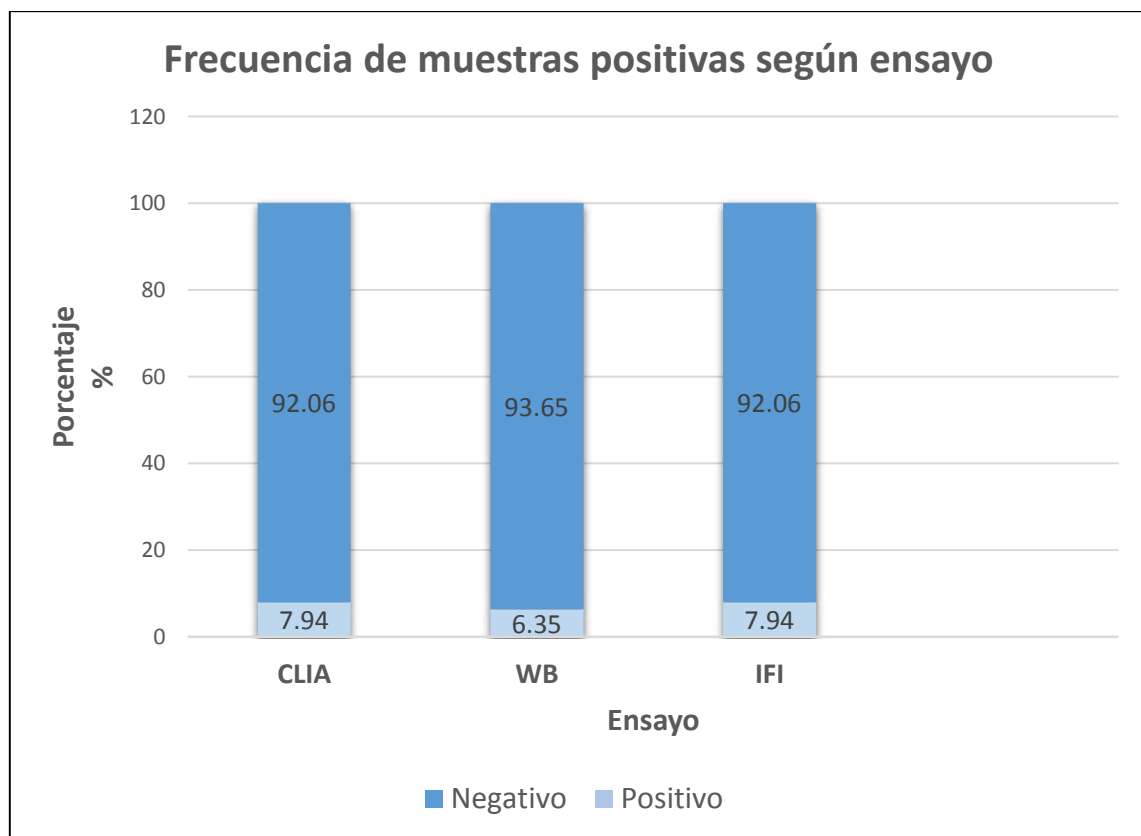
CAPITULO III

RESULTADOS

1. FRECUENCIA DE ANTICUERPOS SEGÚN ENSAYO

Se recolectaron 65 muestras de plasmas, de las cuales 2 fueron rechazadas (uno por lipemia y otro por datos incompletos). Resultando 63 muestras procesadas (100%), 7.94% (5/63) fueron reactivas por Quimioluminiscencia (CLIA), la cual es considerada como prueba de tamizaje. En relación a las pruebas confirmatorias, 6.35% (4/63) fueron positivos por Western Blot (WB), mientras 7.94% (5/63) por Inmunofluorescencia (IFI). (Gráfico N°1)

Gráfico N°1. Porcentaje de resultados positivos y negativos en muestras de plasma evaluados por CLIA: Inmunoensayo quimioluminiscente con micropartículas, WB: Western Blot e IFI: Inmunofluorescencia Indirecta



2. CONCORDANCIA ENTRE LOS ENSAYOS

La concordancia entre la prueba de CLIA e IFI tuvo un índice kappa (k) de 0.78, mientras que el WB e IFI un k de 0.88 (**Tabla N°1 y 2**). Se observa en la Tabla N°1, dos resultados discordantes, donde uno fue positivo para IFI pero no por CLIA y el otro positivo por CLIA pero no por IFI.

En la Tabla N°2, solo un resultado discordante que fue positivo por IFI, mas no por WB.

Tabla N° 1: Comparación entre el método CLIA e IFI.

Julio-Noviembre 2015 – HNERM (n=63)

METODO		IFI		Total
(Índice kappa)		Positivo	Negativo	
CLIA	Reactivo	4	1	5
	No reactivo	1	57	58
Total		5	58	63

Tabla N° 2: Comparación entre el método WB e IFI.

Julio-Noviembre 2015 – HNERM (n=63)

METODO		IFI		Total
(Índice kappa)		Positivo	Negativo	
WB	Positivo	4	0	4
	Negativo	1	58	59
Total		5	58	63

Así mismo se hizo una comparación entre las pruebas CLIA y WB donde el índice k fue de 0.88 (**Tabla N°3**). Se halló un resultado discordante que fue reactivo por CLIA y negativo por WB.

Tabla N° 3: Comparación entre el método CLIA y WB.

Julio-Noviembre 2015 – HNERM (n=63)

METODO		WB		Total
		Positivo	Negativo	
CLIA	Reactivo	4	1	5
	No reactivo	0	58	58
Total		4	59	63

Finalmente, se aplicó el análisis de Chi cuadrado (Chi2), con un nivel de confianza del 95% y $p > 0.05$, para determinar si existe asociación entre las 3 pruebas inmunoserológicas. Siendo el análisis del Chi2, que existe relación en los resultados de los ensayos. (**ANEXO N°5**)

3. CALCULO DE LA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD

Considerando al IFI como prueba de referencia, se halla que la prueba de CLIA alcanzó una sensibilidad y especificidad de 80 y 98% respectivamente. Mientras el WB mostró una sensibilidad y especificidad de 80 y 100% (**Tabla N°4**).

De la misma manera, la prueba CLIA dio un valor predictivo positivo (VPP) de 80% y un valor predictivo negativo (VPN) de 98%.

Tabla N° 4: Sensibilidad y especificidad del ensayo de CLIA y WB frente al IFI

ENSAYO	Sensibilidad	Especificidad
CLIA	80%	98%
WB	80%	100%

4. MUESTRAS CON RESULTADOS DISCREPANTES EN LOS 3 ENSAYOS

Se halló 3.2% (2/63) de muestras discordantes, donde una mostró una reactividad débil por CLIA (sin ser positiva en las pruebas confirmatorias). Mientras el otro dio positividad por IFI (baja fluorescencia) pero no por WB ni reactividad por CLIA (**Tabla N°5**).

Tabla N° 5: Muestras con resultados discrepantes en cada ensayo realizado

MUESTRA	CLIA (Ratio S/CO)	WB (Bandas)	IFI
1	1.02 (Reactivo)	Neg	Neg
2	0.03 (No reactivo)	Neg	Pos

5. MUESTRAS CON RESULTADOS CONCORDANTES EN LOS 3 ENSAYOS

Del total de 63 muestras estudiadas reactivas por ELISA, solo el 6.3% (4/63) mostraron resultados positivos para los tres ensayos (CLIA, WB, IFI) (Tabla N°6).

Tabla N° 6: Muestras con resultados concordantes en cada ensayo realizado

MUESTRA	CLIA (Ratio S/CO)	WB (Bandas) *	IFI
1	10.90	10,14,20,23 y 26	Pos
2	10.49	23 y 26	Pos
3	14.19	10, 14,15,19,20,23 y 26	Pos
4	6.80	14,20,23 y 26	Pos

*Cualquiera de las bandas es considerada Dx. para Chagas

CAPITULO IV

DISCUSIÓN

El diagnóstico de enfermedad chagásica por el Laboratorio presenta cierta dificultad asociada a la variabilidad antigénica del parásito, lo que conlleva a que no se alcance un consenso para determinar o seleccionar una prueba de referencia. Estudios como el de Concha F. (España 2016), quien a partir de dos grupos de donantes, demostró la diferencia que había en los valores de seroprevalencia aplicando una serie de pruebas serológicas de diversa metodología (ELISA, WB, IFI).⁴⁶

Los bancos de sangre para el tamizaje de unidades priorizan la sensibilidad de las pruebas, pero sin dejar de lado una adecuada especificidad. CLIA ha demostrado ser una prueba de sensibilidad semejante, y especificidad superior al ELISA; pues presenta menos falsos positivos. Esto es importante ya que permitirá a los servicios evitar el innecesario descarte de unidades de sangre.

El CLIA es un método automatizado de cuantificación simple, barata y sensible, recientemente implementado para el tamizaje de donantes. En el estudio solo una muestra resultó reactiva para CLIA, con reactividad débil ligeramente por encima del punto de corte (siendo negativa por WB e IFI), por lo que se presume como un falso positivo.

El IFI es un ensayo de inmunomarcación fluorescente que emplea epimastigotes de *Trypanosoma* para evidenciar anticuerpos, siendo considerado el ensayo de referencia. En este estudio, solo una muestra resultó positivo por IFI y negativo por los demás ensayos. Resultados como este se encontró en el estudio de Díaz R. (Chile 2003), donde se registró tres resultados con IFI positivo, siendo negativo para otras pruebas como WB y ELISA.²

Estudios previos evaluaron mayores poblaciones de estudio, bajo diferentes criterios de selección y confirmación de casos. En nuestro estudio, de los 16,000 donantes tamizados por el Hospital Rebagliati a lo largo de 5 meses, se recolectó solo las muestras reactivas en el tamizaje por ELISA para Chagas, con el fin de aumentar la probabilidad de obtener resultados positivos, para una mejor comparación y porque solo se priorizo el acceso a estas muestras.

Moreno C. (Ecuador 2016), en su estudio demostró una seroprevalencia de 0.28% (23/8,140) en donantes del Hospital Carlos Andrade en un periodo de siete meses ⁴⁷. En contraste, nuestro estudio encontró una seroprevalencia mayor, que fue de 0.4% (63/16,000) en un periodo de cinco meses.

Campos E. (Costa Rica 2013), en su estudio evaluó 3630 muestras de donantes con tamizaje reactivo a lo largo de 4 años, enviados al Centro Nacional de Referencia en Parasitología (CNRP) para su confirmación (mediante 2 ELISAS e IFI), obteniendo 4.6% (168/3630) de resultados confirmados ⁴⁸. En comparación con nuestro estudio donde a partir de 63 muestras se encontró 7.9% (5/63) de casos confirmados.

Beltrán M. (Colombia 2003), encontró una seroprevalencia por ELISA de 0.42% a partir de 482,371 unidades de sangre, resultado muy similar a nuestro estudio (0.4%). Sin embargo, su estudio halló en un grupo de 1298 sueros reactivos una frecuencia de 85.4% de casos confirmados por IFI ⁴⁹, porcentaje muy superior al reportado en nuestro estudio. En otro estudio hecho en el mismo país, por Hilarión L. (Colombia 2013), se analizó 42,516 muestras tamizadas a lo largo de 15 años, detectando 0.6% de muestras reactivas. De estas, 116 fueron sometidas a pruebas adicionales para su confirmación (IFI y hemoaglutinación indirecta), resultando positivas 82% ⁵⁰, nuevamente obteniendo un porcentaje superior al nuestro. Esto puede ser explicado, ya que ambos estudios hechos en Colombia tamizaron poblaciones de zonas endémicas a la enfermedad de Chagas, a comparación con nuestro estudio que obtuvo las muestras de un Hospital de zona urbana no endémica.

Si se comparan los resultados hallados, con estudios nacionales como el de Monteza Y. (Perú 2001), que analizaron 878 donantes de la Región de San Martín obteniendo un porcentaje en el tamizaje por ELISA de 2.3% (21/878), y de estas 19% (4/21) confirmadas mediante la técnica de IFI en el Instituto Nacional de Salud (INS).⁵¹ Nuestros resultados muestran una seroprevalencia menor (0.4%), de los cuales 7.9% fueron confirmados por IFI.

Chiera A. (Argentina 2013), en su estudio comparativo de técnicas de tamizaje, donde analizó 752 donantes mediante ELISA y CLIA, obtuvo 1% (8/752) y 0.4% (3/752) resultados reactivos respectivamente, todos interpretados como falsos positivos (IFI negativo).⁹ Nuestra investigación encontró una seroprevalencia de 0.4% por ELISA, de los cuales 7.9% fueron IFI positivo; se muestra un mayor porcentaje de casos positivos por IFI posiblemente porque se procesó un mayor número de muestras reactivas (n=63), en comparación al estudio de Chiera (n=9).

Ante lo discutido, se halla variación en la seroprevalencia y prevalencia de la enfermedad de Chagas en diferentes estudios, ya que se afecta por varios factores, como el tipo de cepa y antígenos empleados por cada metodología, el área geográfica y la población estudiada.

El índice Kappa es una medida estadística que permite establecer el grado de concordancia entre elementos cualitativos de manera precisa. Iborra M. (España 2012), a partir de 165 muestras (89 negativas y 76 positivas) de pacientes atendidos por el Laboratorio, otorgo un índice de concordancia (k) de 0.91, entre el CLIA e IFI ⁴, comparado con nuestros resultados donde se halló un índice kappa de 0.78 entre los mismos ensayos. La diferencia con nuestra investigación, puede deberse a la menor población de estudio y al tipo de muestreo realizado.

Fernández C. (Argentina 2013), realizó un estudio con donantes (n=267), de los cuales eran 118 positivas, 135 negativas y 14 discordantes; para la evaluación del sistema CLIA ARCHITECT, donde halló una sensibilidad de 100% y especificidad de 99.3%.¹¹ Del mismo modo, Iborra M. (España 2012), obtuvo una sensibilidad de 100% y especificidad de 96.6%.⁴ A diferencia de estos estudios, nuestra investigación determinó una sensibilidad de 80% y especificidad de 98%. Como se evidencia, hay una menor sensibilidad en nuestros resultados debido potencialmente a la baja frecuencia de muestras positivas y a la diferencia en la selección de la población de estudio, en comparación a las otras investigaciones mencionadas.

Asimismo, en el estudio CLIA obtuvo un valor predictivo positivo (VPP) de 80% y un valor predictivo negativo (VPN) de 98%, mostrando una alta capacidad discriminatoria entre muestras positivas y negativas. Por consiguiente, el CLIA ha demostrado ser una prueba adecuada para el cribado de enfermedad de Chagas en bancos de sangre, detectando los donantes potencialmente infectados y evitando el descarte innecesario de bolsas de sangre.

De los resultados obtenidos en el estudio se demuestra que la metodología ELISA presentó un alto porcentaje de falsos positivos de 92% (58/63), frente a otras metodologías (CLIA, WB, IFI). Resultados semejantes fueron reportados en el estudio de Enciso C. (Colombia 2004), quien compara 2 ELISAS de diferente origen (ELISA in house y Chagatek) frente a la prueba IFI, hallando falsos positivos en ambos (7% para el ELISA in house y 50% para el Chagatek).²¹ Estos hallazgos pueden deberse principalmente al tipo de cepa y antígenos utilizados en los ELISAS y al área geográfica donde se realizaron los mismos. Del mismo modo, se demostró en nuestra investigación que las muestras confirmadas positivas (5/63) obtuvieron resultados de ELISA con Ratio > 3, mostrando un índice de reactividad alto.

Los resultados obtenidos del estudio plantean que los ensayos inmunoserológicos para la detección de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* en donantes son comparables a otros reportes realizados internacionalmente.

Esta es la primera investigación que compara tres ensayos inmunoserológicos (CLIA, WB, IFI) en donantes de sangre del Perú. En la actualidad, no todos los hospitales realizan la confirmación de estos casos poniendo en riesgo la salud del donante y posibilitando que este pueda volver a donar.

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

El estudio realizado alcanzó las siguientes conclusiones:

- El grado de concordancia entre CLIA, WB e IFI fue buena.
El índice k de CLIA frente a IFI fue 0.78, la prueba WB frente a IFI fue 0.88 y CLIA frente a WB fue 0.88.
- El porcentaje de muestras reactivas por CLIA fue 7.94%
- El porcentaje de muestras positivas por WB fue 6.35% y por IFI 7.94%.
(Consideradas verdaderas positivas)
- Existe asociación entre los 3 ensayos inmunoserológicos.
- La sensibilidad y especificidad del ensayo de CLIA fue 80% y 98%, respectivamente.
- La sensibilidad y especificidad para la prueba de WB fue 80% y 100%, respectivamente.

RECOMENDACIONES

- ♦ Bajo los hallazgos del estudio, toda muestra reactiva al tamizaje serológico para enfermedad de Chagas en donantes, debe ser sometido a un flujograma diagnóstico para su confirmación y posterior seguimiento del donante.
- ♦ Los mismos bancos de sangre deben realizar la confirmación de enfermedad de Chagas, empleando el Western Blot, el cual ha demostrado ser una buena alternativa debido a su practicidad, fácil implementación y menor subjetividad, en comparación al IFI. Además de su buena sensibilidad y especificidad.
- ♦ En lo que respecta al diagnóstico de la enfermedad de Chagas, para el caso de resultados discordantes, es recomendable para garantizar un diagnóstico certero, combinar el uso de las técnicas inmunológicas con pruebas moleculares.
- ♦ El valor del ratio en el cribado serológico, sugiere una mayor probabilidad de tener la enfermedad, justificando la realización de pruebas confirmatorias.

- ♦ Complementar con otros estudios de mayor muestreo, incluyendo muestras con resultados negativos en el tamizaje, para una comparación más certera y empleando los otros marcadores del tamizaje de donantes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Grupo de Trabajo Donación de Sangre e Inmigración. Enfermedad de Chagas y donación de sangre. Sec Gen Sanidad (España). 2009; 1–48.
2. Díaz R, Müller I, Coronado X, Sánchez G, Zulantay I, Y Hevia E. Diagnóstico de Chagas por Elisa, comparación entre ensayos comerciales producidos por Tecnología tradicional y Tecnología recombinante. Fac Med Univ Chile. 2003.
3. Ochoa R. Técnicas Inmunoenzimáticas para Ensayos Clínicos de Vacunas y Estudios Inmunoepidemiológicos [Internet]. La Habana, Cuba: Finlay Ediciones; 2012. [citado: 2016 Agosto 13] Disponible en: <http://www.finlay.sld.cu/ediciones.html>.
4. Iborra M. Enfermedad de Chagas en fase crónica. Evaluación de diferentes métodos diagnósticos en una zona no endémica [Internet]. España: Univ Murcia; 2012 [citado: 2015 Diciembre 19]. Disponible en: <https://digitum.um.es/xmlui/handle/10201/35419>
5. García A, Baeyens W, Zhang X, Ales F, Gamiz L. Quimioluminiscencia: una interesante alternativa para la detección analítica en sistemas de flujo. Ars Pharm (Granada). 2001; 42:81–107.
6. Ministerio de Salud. Lineamientos de política del Pronahebas. DGSP-PRONAHEBAS (Perú), 2007.
7. Pereira F, Bertollo L, Zarife M. Comparação de dois testes automatizados por quimioluminiscência para a detecção de anticorpos contra o vírus da hepatite C. Rev Pan-AmazSaúde (Bahía). 2010 Dec; 1(4):17–21.

8. Apt W, Heitmann I, Jersic I, Jotré L, Muñoz P, Noemí I, et al. Guías clínicas de la enfermedad de Chagas: Parte III. Enfermedad de Chagas en donantes de banco de sangre. *Rev Chil Infectol*. 2008 Aug; 25(4):285–8.
9. Chiera A, Borrajo G, Larrañaga G, Bonacina C, Punzi M. Estudio Comparativo de Especificidad entre dos Técnicas para el Tamizaje de Chagas en Donantes de Sangre. *Inst Hemot (Bs As)*. 2013.
10. Ministerio de Salud. Sistema de Gestión de la Calidad del PRONAHEBAS – Guía de procesos. DGSP-PRONAHEBAS (Perú), 2003.
11. Fernández C, Suris A, Berenice M, Ferraro L, Kuperman S, Puppo M, et al. Evaluación del sistema ARCHITECT para tamizaje de anticuerpos a *Trypanosoma cruzi*. *Ctro Rgnal Hemot (Bs As)*. 2013.
12. Blejer J, Saguier M, Dinapoli R, Salamone H. Prevalencia de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* en donantes de sangre. *Med B Aires*. 1999; 59(2):129–32.
13. Blejer J, Saguier M, Salamone H. Tamizaje serológico de anticuerpos anti *trypanosoma cruzi* en bancos de sangre en Buenos Aires, Argentina. *InstCard y CV*. 2004
14. Sáez A, Murta M, Marques W, Silva G da. The results of an external quality control program for serological screening for antibodies against *Trypanosoma cruzi* in blood donors in Brazil. *RevPanamSaludPública*. 2003 Mar; 13(2-3):129–37.
15. Flores M, Cruz I, Rodríguez M, Nieto J, Franco E, Gárate T, et al. Comparación de técnicas serológicas convencionales y no convencionales para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas importada en España. *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica*. 2010; 28(5):284–93.
16. Bendicho M, Hernández M, Contreras C, Hernández M. ARCHITECT Chagas: una nueva herramienta diagnóstica en la enfermedad de Chagas. *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica ElSevier, España*. 2012; 30(8):463–5.
17. Ferrer E, Lares M, Viettri M, Medina M. Comparación entre técnicas inmunológicas y moleculares para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica ElSevier, España*. 2013; 31(5):277–82.

18. Farfán A, Castellanos Y, Luna K, Angulo V. Concordancia de dos pruebas serológicas para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. *Rev Salud Pública (Bucaramanga)*. 2013 Mar; 15(2):208–19.
19. Duarte L, Flórez O, Rincón G, González C. Comparison of seven diagnostic tests to detect *Trypanosoma cruzi* infection in patients in chronic phase of Chagas disease. *Colomb Médica*. 2014 Jul 3; 45(2):61–6.
20. Avila H, Pereira J, Thiemann O, De Paiva E, De Grave W, Morel C, et al. Detection of *Trypanosoma cruzi* in blood specimens of chronic chagasic patients by polymerase chain reaction amplification of kinetoplast minicircle DNA: comparison with serology and xenodiagnosis. *J Clin Microbiol (EE.UU)*. 1993 Sep; 31(9):2421–6.
21. Enciso C, Montilla M, Santacruz M, Nicholls R, Rodríguez A, Mercado M, et al. Comparación de la prueba de inmunofluorescencia indirecta, un inmunoensayo enzimático y la prueba comercial Chagatek para la detección de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi*. *Biomédica (Bogotá)*. 2004 Mar 1; 24(1):104–8.
22. Chang C, Cheng K, Jiang L, Salbilla V, Haller A, Yem A, et al. Evaluation of a prototype *Trypanosoma cruzi* antibody assay with recombinant antigens on a fully automated chemiluminescence analyzer for blood donor screening. *Transfusion (Paris)*. 2006 Oct; 46(10):1737–44.
23. Sabino E, Lee T, Montalvo L, Nguyen M, Leiby D, Carrick D, et al. Antibody levels correlate with detection of *Trypanosoma cruzi* DNA by sensitive polymerase chain reaction assays in seropositive blood donors and possible resolution of infection over time. *Transfusion (Paris)*. 2013 Jun; 53(6):1257–65.
24. Escalante H, Jara C, Davelois K, Iglesias M, Benites A, Espinoza R. Estandarización de la técnica de western blot para el diagnóstico específico de la enfermedad de Chagas utilizando antígenos de excreción-secreción de los epimastigotes de *Trypanosoma cruzi*. *RevPeru Med Exp Salud Pública*. 2014 Oct; 31(4):644–51.

25. Departamento de Epidemiología. Circular de Vigilancia de Enfermedad De Chagas. Sub Sec Salud Pública (Gob. de Chile). 2010.
26. Vega S. Manual de procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de la Trypanosomiasis Americana (Enfermedad de Chagas). Ministerio de Salud, Perú. 1999.
27. Brener Z. Biology of Trypanosoma cruzi. Annu Rev Microbiol (Belo Horizonte). 1973; 27:347–82.
28. Burleigh B, Wendell S, Gonzaga AL. Chagas' disease and bloodtransfusion: a new world problem? Vox Sanguinis 1993; 64: 1-12.
29. Freitas J, Amato V, Sonntag R, BiancalanaA, Nussenzweig V, Barreto J. Primeiras verificacoes de transmissao accidental de molestia de Chagas aohomem por transfusao de sangue. Rev Paulista Medicina (Sao Paulo). 1952; 40:36-40.
30. Schmunis G. Riesgo de la Enfermedad de Chagas a través de las Transfusiones en las Américas. Med (Buenos Aires). 1999; 59(Suppl 2): 125-34.
31. Organización Panamericana de la Salud. Estimación Cuantitativa de la Enfermedad de Chagas en Las Américas. WHO/NTD/IDM. 2006
32. Prata A. Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease. Lancet Infect Dis (Londres). 2001 Sep; 1(2):92–100.
33. Acquatella H. Echocardiography in Chagas Heart Disease. Circulation (EE.UU). 2007 Mar 6; 115(9):1124–31.
34. Maguire J. Trypanosoma. In: Gorbach S, Bartlett J, Blacklow N, editors. Infectious diseases. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott, Williams, & Wilkins. 2004: 2327-34.
35. Basso B, Moretti E. El laboratorio en el diagnóstico de la infección chagásica. Córdoba [citado: 2016 Agosto 31]. Disponible de: <http://enfermedadchagas.com.ar/labdiag.pdf>
36. Chiller T, Samudio M, Zoulek G. IgG antibody reactivity with Trypanosoma cruzi and Leishmania antigens in sera of patients with Chagas' disease and leishmaniasis. Am J Trop Med Hyg (EE.UU). 1990 Dec; 43(6):650–6.

37. Guhl F, Hudson L, Marinkelle C, Jaramillo C, Bridge D. Clinical *Trypanosoma rangeli* infection as a complication of Chagas' disease (EE.UU). *Parasitology*. 1987 Jun; 94 (Pt 3):475–84.
38. Luquetti A. Megaesôfago e anticorpos anti-*Trypanosoma cruzi*. *Rev Goiana Med (Goiás)*. 1987 Dec; 33(Pt4):1–16.
39. Moncayo A, Luquetti A. Multicentre double bind study for evaluation of *Trypanosoma cruzi* defined antigens as diagnostic reagents. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. 1990; 85(4): 489-95
40. Alves T, Bastos H, Abaounoch A, Cançado R, Cassão A, Pantaleão D, et al. Análise comparativa entre pacientes com a forma indeterminada da doença Chagas e indivíduos normais. Estudo anatomofuncional pe la ecocardiografia *Arq Bras Cardiol*. 1987; 49(Suppl.): 47
41. Goto Y, Carter D, Reed S. Immunological Dominance of *Trypanosoma cruzi* Tandem Repeat Proteins. *Infect Immun (EE.UU)*. 2008 Sep 1; 76(9):3967–74.
42. Umezawa E, Bastos S, Camargo M, Yamauchi L, Santos M, Gonzalez A, et al. Evaluation of recombinant antigens for serodiagnosis of Chagas' disease in South and Central America. *J Clin Microbiol (EE.UU)*. 1999 May; 37(5):1554–60.
43. da Silveira J, Umezawa E, Luquetti A. Chagas disease: recombinant *Trypanosoma cruzi* antigens for serological diagnosis. *Trends Parasitol*. 2001 Jun;17(6):286–91
44. Umezawa E, Luquetti A, Levitus G, Ponce C, Ponce E, Henriquez D, et al. Serodiagnosis of chronic and acute Chagas' disease with *Trypanosoma cruzi* recombinant proteins: results of a collaborative study in six Latin American countries. *J Clin Microbiol (EE.UU)*. 2004 Jan;42(1):449–52
45. Guías para la atención al paciente infectado con *Trypanosoma cruzi* (Enfermedad de Chagas). Buenos Aires: Ministerio de Salud de la Nación. 2012.
46. Concha F. Diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas (Chagas congénito y en donantes de sangre): Validación del antígeno Hierro Superóxido

- Dismutasa excretada (Fe-SODe) de Trypanosoma cruzi. España: Univ Granada. 2016. [<http://hdl.handle.net/10481/40978>]
47. Moreno C. Prevalencia de Chagas en donantes del banco de sangre del Hospital Carlos Andrade Marín en el periodo enero – julio 2016. Quito: Fac Ciencias Médicas, Univ Ctrl Ecuador. 2016.
48. Campos E, Calvo N. Confirmación diagnóstica del tamizaje de enfermedad de Chagas en Costa Rica. Rev Costarr Salud Pública. 2013; 22(1): 4-8.
49. Beltrán M, Bermúdez M, Forero M, Ayala M, Rodríguez M. Control de la infección por Trypanosoma cruzi en donantes de sangre de Colombia, 2003. Biomédica. 2005; 25:527-32.
50. Hilarión L. Caracterización epidemiológica de todos los casos reactivos y confirmados de Trypanosoma cruzi en donantes de sangre del Departamento de Caquetá de 1995 a 2010. Bogotá: Fac Med Dep Salud Pública. Univ Nacional de Colombia. 2013.
51. Monteza Y, Melgar R, Navarro M, Mori S. Infección por Trypanosoma Cruzi en Donantes de Sangre. Región San Martín-2001. Rev Peru Med Exp Salud Pública 2002; 19.

ANEXOS

ANEXO 1

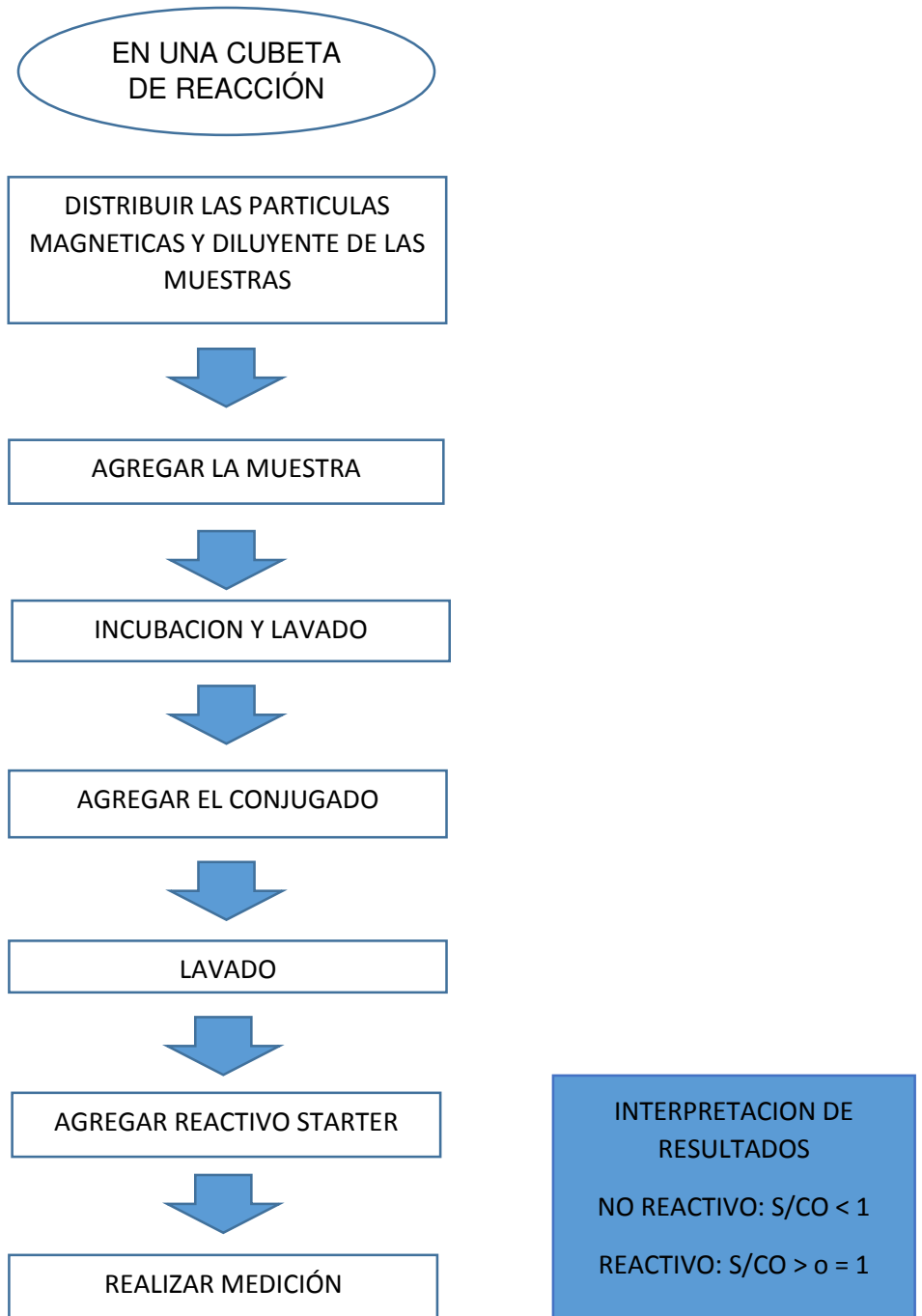
FICHA DE RECOLECCION DE DATOS

REGISTRO DE RESULTADOS DE LAS MUESTRAS								
MUESTRA	CODIGO	FECHA	RESULTADO POR ELISA (Ratio)			CLIA	PRUEBAS CONFIRMATORIAS	
			Primero	Segundo	Tercero		IFI	WESTERN BLOT

ANEXO 2

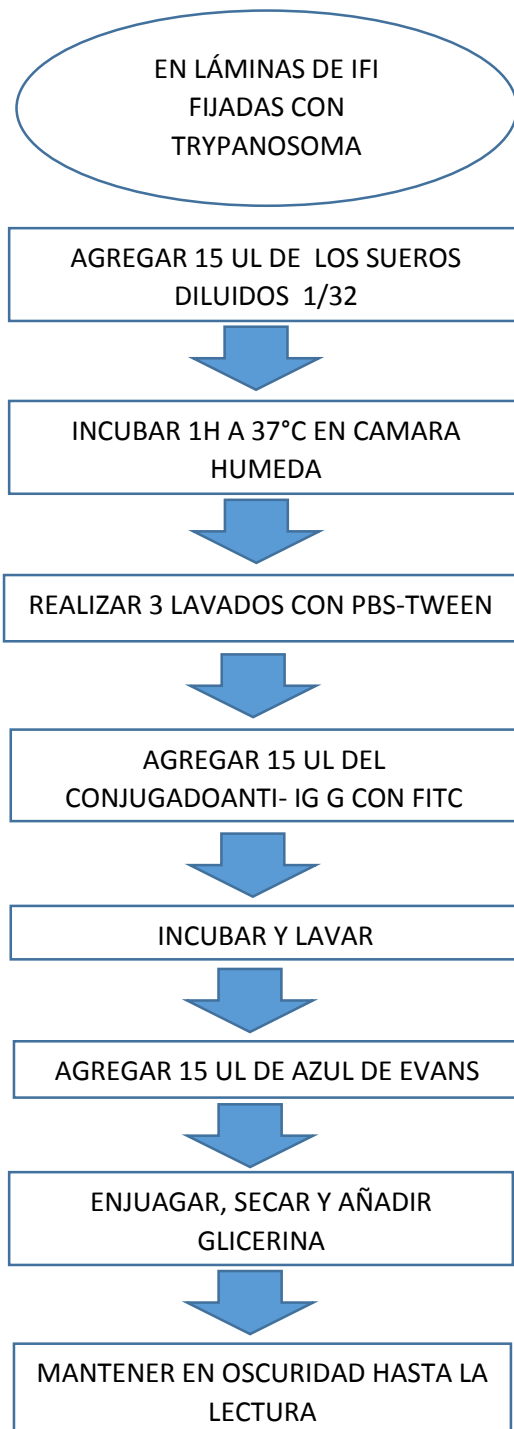
PROTOCOLO DE TRABAJO CLIA – ARCHITECT

(Proceso automatizado)



ANEXO 3

PROTOCOLO DE TRABAJO – IFI



INTERPRETACION DE RESULTADOS

POSITIVO: PARASITOS
FLUORESCEN COLOR
VERDE MANZANA

NEGATIVO: PARASITOS
COLOR ROJIZO OPACO

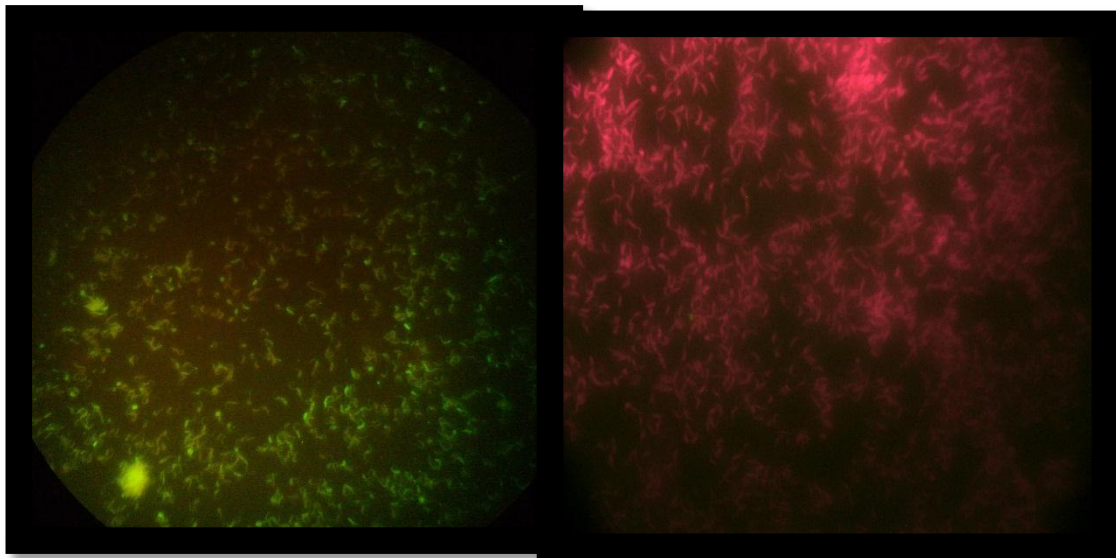
En la **Imagen N° 1** podemos observar los resultados del ensayo de IFI hallados en el estudio. Donde en el plasma positivo se observa la superficie y el flagelo del parásito de color verde manzana fluorescente, y el plasma negativo de color rojizo opaco sin fluorescencia.

Imagen N° 1

Resultado de la prueba de IFI

A

B

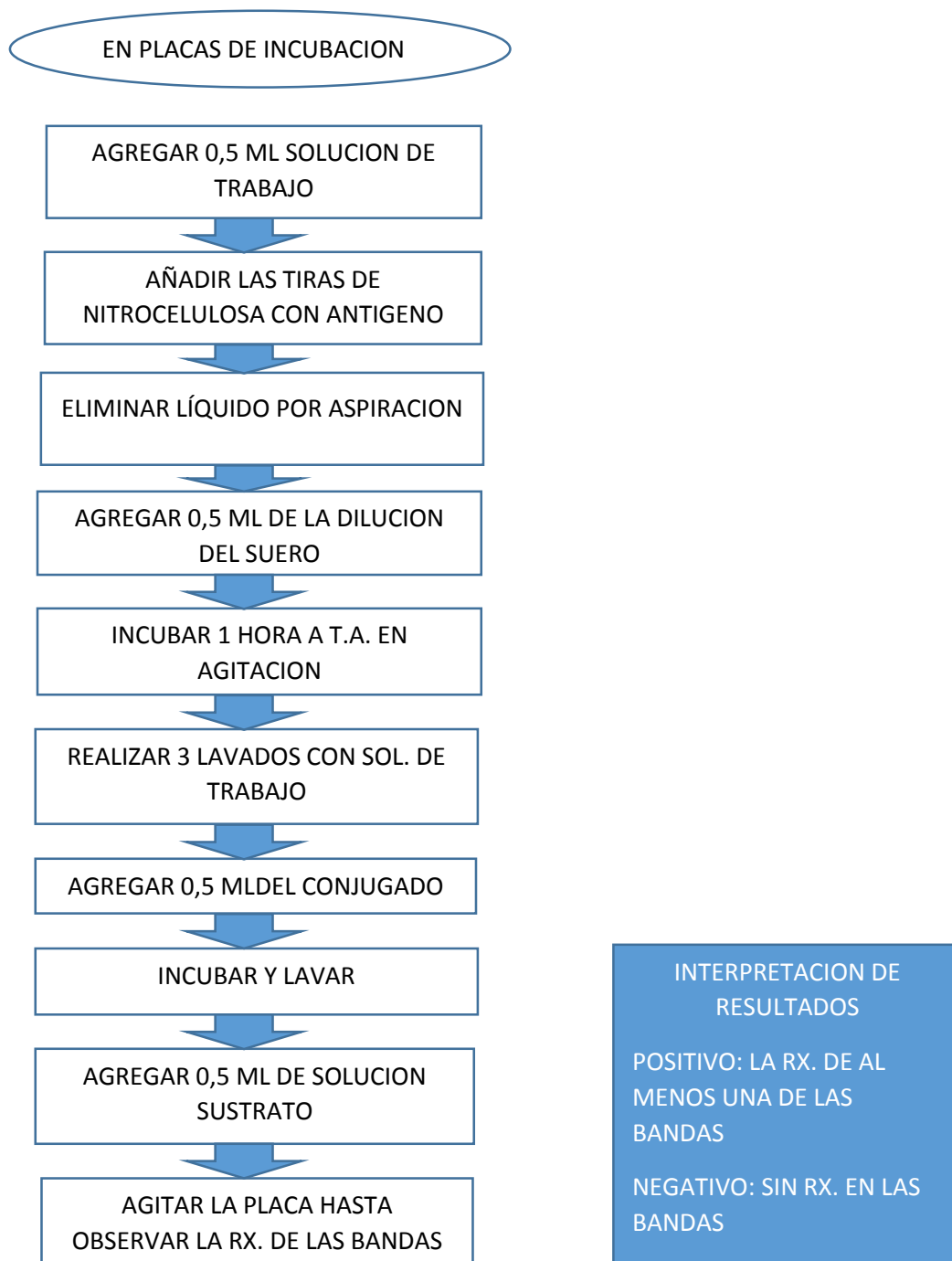


Epimastigote de *T. cruzi*

A: Plasma positivo, **B:** Plasma negativo

ANEXO 4

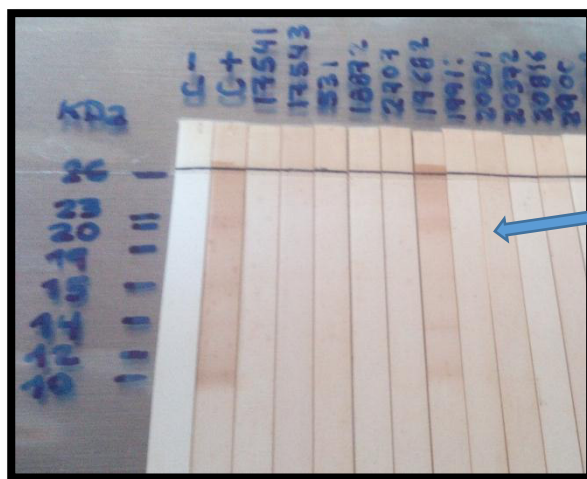
PROTOCOLO DE WESTERN BLOT



En la **Imagen N°2** podemos observar los resultados de WB encontrados en este estudio. Mediante este ensayo se buscó la observación de bandas específicas en tiras de nitrocelulosa (10, 12, 14, 15, 19, 20, 23 y 26 KDa)

Imagen N°2

Imagen tomada después del ensayo del WB



Resultado positivo
con observación
de bandas

ANEXO 5

CALCULO DE LA PRUEBA DE CHI-CUADRADO

Tabla 7. Resultados obtenidos y esperados para el ensayo IFI y CLIA

CLIA	IFI		Total
	NEGATIVO	POSITIVO	
NEGATIVO	57	1	58
	53.4	4.6	58.0
POSITIVO	1	4	5
	4.6	0.4	5.0
Total	58	5	63
	58.0	5.0	63.0

Nivel de confianza	95%
Grados de libertad	1
Chi2 calculado	38.60
Chi2 tabulado	3.84

Tabla 8. Resultados obtenidos y esperados para el ensayo IFI y WB

WB	IFI		Total
	NEGATIVO	POSITIVO	
NEGATIVO	58	1	59
	54.3	4.7	59.0
POSITIVO	0	4	4
	3.7	0.3	4.0
Total	58	5	63
	58.0	5.0	63.0

Nivel de confianza	95%
Grados de libertad	1
Chi2 calculado	49.54
Chi2 tabulado	3.84



Tabla 9. Resultados obtenidos y esperados para el ensayo WB y CLIA

CLIA	WB		Total
	NEGATIVO	POSITIVO	
NEGATIVO	58	0	58
	54.3	3.7	58.0
POSITIVO	1	4	5
	4.7	0.3	5.0
Total	59	4	63
	59.0	4.0	63.0

Nivel de confianza	95%
Grados de libertad	1
Chi2 calculado	49.54
Chi2 tabulado	3.84

ANEXO 6

AUTORIZACIÓN DEL HOSPITAL EDGARDO REBAGLIATI MARTINS

	PERÚ	Ministerio de Trabajo y Promoción del Empleo	Seguro Social de Salud - EsSalud	Red Asistencial Rebagliati	 EsSalud Seguridad Social para todos
---	------	--	----------------------------------	----------------------------	---

"Año de la Consolidación del Mar de Grau"

RESOLUCION DE GERENCIA DE LA RED ASISTENCIAL REBAGLIATI N° 242 GRAR-ESSALUD-2016

Lima, **08 MAR. 2016**

VISTA:

RED ASISTENCIAL REBAGLIATI
ESSALUD

08 MAR 2016

Ing. RICARDO PATIÑO GUTIÉRREZ
Fedatario Titular
Res. N° 004-GRAR-ESSALUD-20015

La Carta N° 488 -OCID-GRAR-EsSalud-2016, mediante la cual se solicita a la Gerencia General de la Red Asistencial Rebagliati la aprobación y autorización para la ejecución del Proyecto de Investigación titulado: "COMPARACIÓN EN EL DESEMPEÑO DE QUIMIOLUMINISCENCIA Y PRUEBAS CONFIRMATORIAS EN MUESTRA REACTIVAS PARA ANTICUERPOS ANTITRIPANOSOMA POR ELISA; EN DONANTES DE SANGRE DEL HOSPITAL NACIONAL EDGARDO REBAGLIATI MARTINS, PERIODO JULIO - NOVIEMBRE DEL 2015, LIMA-PERÚ", aprobado por el Comité de Investigación;

CONSIDERANDO:

Que, la Oficina de Capacitación Investigación y Docencia de la Red Asistencial Rebagliati ha procedido a evaluar la pertinencia de la aprobación del Proyecto de Investigación, titulado: "COMPARACIÓN EN EL DESEMPEÑO DE QUIMIOLUMINISCENCIA Y PRUEBAS CONFIRMATORIAS EN MUESTRA REACTIVAS PARA ANTICUERPOS ANTITRIPANOSOMA POR ELISA; EN DONANTES DE SANGRE DEL HOSPITAL NACIONAL EDGARDO REBAGLIATI MARTINS, PERIODO JULIO - NOVIEMBRE DEL 2015, LIMA-PERÚ", aprobado por el Comité de Investigación, presentado por el Br., GUSTAVO ALDOLFO JAIMES HUAMÁN, como Investigador Principal;

Que de conformidad con el numeral 1.2 del artículo 1° de la Ley N°27056, Ley de la Creación del Seguro Social, EsSalud tiene la finalidad de dar cobertura a los asegurados y sus derechohabientes, a través del otorgamiento de prestaciones de prevención, promoción, recuperación, rehabilitación, prestaciones económicas y prestaciones sociales que corresponden al régimen contributivo de la Seguridad Social en Salud, así como otros seguros de riesgos humanos;

Que, el numeral XV del Título Preliminar de la Ley N° 26842, Ley General de Salud, establece que el Estado promueve la investigación científica y tecnológica en el campo de la salud, así como la formación, capacitación y entrenamiento de recursos humanos para el cuidado de la salud;

Que, el literal d) del artículo 15° de la ley en mención, establece que toda persona usuaria de los servicios de salud, tiene derecho a no ser objeto de experimentación para la aplicación de medicamentos y tratamientos sin ser debidamente informada sobre las condiciones experimentales de éstos, de los riesgos que corre sin que medie previamente su consentimiento escrito o el de la persona llamada legalmente a darlo, si correspondiere o si estuviere impedida de hacerlo;

Que, con Resolución de Presidencia Ejecutiva N° 546-PE-EsSalud-2011 del 22 de julio del 2011, se aprueba el Reglamento de Organización y Funciones de la Red Asistencial Rebagliati y con Resolución de Presidencia Ejecutiva N° 341-PE-ESSALUD-2012, del 30 de marzo del 2012, se aprueba la modificación de la Estructura Orgánica de la Red Asistencial Rebagliati y la Micro Estructura Orgánica del Hospital Nacional "Edgardo Rebagliati Martins";

Que de conformidad con los incisos i) y j) del artículo 7°, Capítulo I, Unidad Orgánica de la Dirección, del Reglamento de Organización y Funciones de la Red Asistencial Rebagliati, establece que la Gerencia Asistencial, tiene entre otras funciones la de conducir y gestionar la implementación y desarrollo de las actividades del Sistema de Gestión de la Calidad y Seguridad del Paciente. Cautelar que las Guías de Práctica Clínica, Protocolos, Manuales, Guías de Procedimientos y demás instrumentos de gestión estén actualizadas para su operatividad asistencial y administrativa, así como aprobar, autorizar, determinar los diversos procesos de responsabilidad de la Red Asistencial, según correspondan, y establecer los mecanismos de información, control, medición, evaluación que correspondan;

Av. Rebagliati 490
Jesús María
Lima 11, Perú
T. 265-4901 / 265-4904